

**SVERIGES  
LANTBRUKSUNIVERSITET**

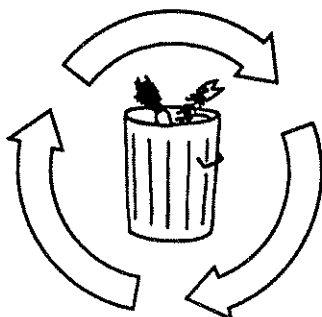
## **KÄLLSORTERAD HUMANURIN**

**- FÖREKOMST OCH ÖVERLEVNAD AV FEKALA  
MIKROORGANISMER SAMT KEMISK SAMMANSÄTTNING**

## **SOURCE SEPARATED HUMAN URINE**

**- OCCURENCE AND SURVIVAL OF FAECAL MICROORGANISMS  
AND CHEMICAL COMPOSITION**

**Anna Olsson**



  
**SMI**

---

**Institutionen för lantbruksteknik**

**Rapport 208  
Report**

**Swedish University of Agricultural Sciences  
Department of Agricultural Engineering**

**Uppsala 1995  
ISSN 0283-0086  
ISRN SLU-LT-R--208--SE**

---

## FÖRORD

Denna rapport är ett examensarbete omfattande 10 poäng på agronomlinjens mark/växt inriktning. Arbetet är ett samarbete mellan Institutionen för lantbruksteknik vid SLU och Smittskyddsinstitutet (SMI), där laboratedelen är utförd på SMI.

Arbetet har gjorts möjligt genom bidrag från TEMA - forskningsprogrammet för "Biologiskt avfall i kretslopp stad - land". Detta forskningsprogram finansieras av lantbruksvetenskapliga fakulteten vid SLU.

För utförandet av arbetet vill jag tacka mina båda handledare, Håkan Jönsson vid institutionen för lantbruksteknik och Thor-Axel Stenström på SMI, för vägledning, uppmuntran och konstruktiv kritik. Jag vill även tacka Ingela Blomén på SMI som varit till ovärderlig hjälp under laboratorietarbetet, men även övrig personal på SMIs vattensektion som svarat på många frågor i tid och otid och gjort arbetet där trivsamt. Jag vill också tacka ägarna till de urinsorterande anläggningar där jag hämtat prover, som ställt upp och hjälpt till med provtagningen och svarat på frågor samt alla andra som jag konsulterat under arbetets gång.

# INNEHÅLLSFÖRTECKNING

<b>SAMMANFATTNING</b>	7
<b>SUMMARY</b>	8
<b>BAKGRUND</b>	9
<b>LITTERATURÖVERSIKT</b>	11
Urinens sammansättning	11
Mikroorganismer och toalettavfall	12
<i>Patogena organismer i avföring</i>	12
<i>Infektionsdoser</i>	13
<i>Överlevnad och tillväxt</i>	14
<i>Transport</i>	14
<b>MATERIAL OCH METODER</b>	15
Försöksuppläggning	15
<i>Hygienisk analys</i>	15
<i>Kemisk analys</i>	16
Provtagning	16
Provplatser	17
Metod, hygienisk analys	18
<i>Förstudie och grundförsök</i>	18
<i>Överlevnadsförsök</i>	19
Metod, kemisk analys	21
<b>RESULTAT</b>	22
Hygienisk analys	22
<i>Förstudie</i>	22
<i>Grundförsök</i>	22
<i>Överlevnadsförsök</i>	25
Kemisk analys	29
<b>DISKUSSION</b>	33
Hygieniska resultat	33
<i>Grundförsök</i>	33
<i>Överlevnadsförsök</i>	33
<i>Faktorer som kan påverka överlevnad...</i>	34
<i>Metoder för hygienisk analys</i>	35
<i>Konventionellt-urinsorteringssystem</i>	35
<i>Hypotetiskt räkneexempel</i>	35
Kemiska resultat	36
<i>Kväve, lagring och förluster</i>	36
<i>Övriga växtnäringssämnen och tungmetaller</i>	36
<i>Salthalt</i>	38
<b>LITTERATURFÖRTECKNING</b>	39
<b>PERSONLIGA MEDDELANDEN</b>	41

## SAMMANFATTNING

För att lyckas med återföring av samhällets organiska avfall till åkermark krävs förändringar i hanteringen av framförallt toalettavfallet. Ett urinsorterande system underlättar hantering och spridning av avfallet. Av toalettavfallets växtnäringssinnehåll återfinns dessutom 70-90% av kvävet i urinen. Även om urin normalt inte innehåller några smittbärande organismer finns risk för inblandning av fekalier till urinen då det med ett urinsorterande system är svårt att uppnå fullständig sortering.

Den hygieniska kvaliteten undersöktes genom att urin från sju olika urinsorterande anläggningar samlades in under oktober -94 och maj -95 och innehållet av fekala indikatororganismer kvantifierades. Inga colifager kunde detekteras. Halterna av *E. coli* var låga i samtliga prov medan halterna av fekala streptokocker varierade mellan 7 och 13000 cfu/ml. I den lagrade urinen varierade pH mellan 7,7 och 9,2. Avdödningen av *E. coli*, fekala streptokocker, *Salmonella typhimurium* SH 4809, *Campylobacter jejuni* S201/94 och bakteriofag *S. typhimurium* 28B undersöktes genom tillsats av av dessa stammar till urin i en mängd av  $10^6$  organismer per ml. Proven inkuberades i 4 respektive 20°C. *Campylobacter jejuni* kunde överhuvudtaget inte odlas fram ur urinlösningen. Avdödningen av *E. coli* och *S. typhimurium* var mycket snabb. Efter två dagar kunde *S. typhimurium* inte längre återfinnas, varken i 4 eller 20°C. Efter tre dagar i 20°C och efter sju dagar i 4°C kunde inga *E. coli* återfinnas i urin. Överlevnaden av fekala streptokocker var betydligt bättre. Efter 35 dagar hade halten reducerats till mindre än 1 cfu/ml i urin som inkuberats i 20°C och till ca 3000 cfu i urin som inkuberats i 4°C. Ingen signifikant reduktion av bakteriofag *S. typhimurium* 28B kunde detekteras efter 42 dagar.

Den kemiska sammansättningen av källsorterad humanurin analyserades i prov som samlats in under december -94 och maj -95. Halterna av kväve i urinen varierade bl.a. beroende på graden av utspädning med spolvatten. Analyser visar att urean i urinen under lagring till stor del brutits ned och omvandlats till ammoniak, vilket lett till höga pH värden.

## SUMMARY

To successfully recirculate organic wastes from densely populated areas back to agriculture, changes in the handling of toilet wastes are needed. A urine separation system facilitates the handling and spreading of these wastes. 70-90% of the nitrogen in toilet waste is found in the urine. Urine normally contains low counts of pathogenic microorganisms. There is, however, a risk of contamination of the urine by faecal material.

The hygienic quality of stored urine was investigated by collecting urine samples from seven urine-separating constructions in October-94 and in May-95. Faecal indicator bacteria in the samples were enumerated. The content of *Escherichia coli* was low in all the samples, while faecal streptococci were present in amounts between 7 and 13000 cfu/ml. No coliphages could be detected. The pH in the stored urine ranged from 7.7 to 9.2. The die-off of *E. coli* faecal streptococci, *Salmonella typhimurium* SH 4809, *Campylobacter jejuni* S201/94 and bacteriophage *S. typhimurium* 28B was tested by adding these strains to urine in amounts of ca  $10^6$  cells/ml. Samples were incubated at 4 and 20°C. The die-off of *E. coli*, *S. typhimurium* and *C. jejuni* in urine was rapid. *C. jejuni* could not be recovered at all. After two days, *S. typhimurium* could not be detected in the urine incubated at 4°C, or at 20°C. *E. coli* could not be detected after three days in urine stored at 20°C or after seven days in 4°C. The persistence of faecal streptococci was considerably better. After 35 days the counts in urine incubated at 20°C were reduced to less than 1 cfu/ml while these at 4°C were ca 3000 cfu/ml. No significant reduction was observed for bacteriophage *S. typhimurium* 28B in urine incubated 42 days at 4 or 20°C.

The chemical composition of the stored urine was also investigated. Samples were collected in December -94 and in May -95. Nitrogen content varied depending upon many other things, the dilution with flashwater. Analyses showed that the urea in the urine during storage had been decomposed to ammonia, which led to high pH values.

## BAKGRUND

Framväxt av städer och samhällen har medfört långväga och enkelriktade flöden av mat och därmed förflyttning och lokal anrikning av växtnäringsämnen. Urbaniseringen har också inneburit att det blivit dyrare och svårare att återföra växtnäring och organiskt material från staden till den åker varifrån den kommit. Detta beror bl.a. på de stora arealer samt långa och kostsamma transporter som krävs för att få avsättning för det organiska avfall staden producerar.

I dagsläget återförs till åkermark endast en mindre del av samhällets organiska avfall i form av avloppsslam, kompost och rötrester. Näringsflödet varierar sedan beroende på ämne. Avloppsslam är relativt rikt på fosfor men fattigt på kväve och kalium vilket beror på behandlingen i reningsverk (Pettersson, 1992).

Avloppsslammet kan utgöra en viktig fosforkälla för jordbruket, förutsatt att det inte innehåller tungmetaller eller organiska miljögifter i sådan omfattning att det blir skadligt för människor och djur (Wolgast, 1994). År 1990 deponerades 3/4 av slammet medan endast 1/4 togs om hand i jordbruket (SCB, 1992). En stor del av avloppsvattnets innehåll av kväve och kalium passerar dock reningsverken med utgående vatten (Pettersson, 1992). Organiskt material och växtnäring genererar därmed miljö och resursproblem genom att näring tillförs där den inte är önskvärd istället för att komma odlingen till godo.

Till samhällets växtnäringsrika avfall räknas rester från livsmedelsindustri, hushåll och storkök samt avloppssystemens toalettavfall. Av de växtnäringsämnen som jordbruket producerar återfinns 60-70% i toalettavfallet och av detta återfinns 70-90% i urinen och 10-30 % i fekalier (Jönsson m.fl., 1995). Enligt tabell 1 är innehållet av framförallt kväve lågt i fekalier jämfört med urin. Genom källsortering och återföring av urinen uppnås därmed hög grad av recirkulation av växtnäringsämnen. Den växtnäring som finns i urin och som produceras av Sveriges alla invånare motsvarar 15-20 % av handelsgödselansvändningen 1993 (Jönsson, pers. medd.).

Tabell 1. *Avloppsvatten, hushåll (g/ person och dygn) (SNV, 1995)*

Ämne	Urin	Fekalier	BDT <sup>1)</sup>
Kväve	11,0	1,5	1,0
Fosfor	1,0	0,5	0,6
Kalium	2,5	1,0	0,5

<sup>1)</sup> Bad, dusch och tvättvatten

Urinsorterande system med dess specialkonstruerade toaletter började utvecklas på 80-talet och finns idag av flera fabrikat. Flertalet av dessa har kombinerats med multrum och torr-klosset och lämpar sig framförallt för fritidsbebyggelse. En vidareutveckling har inneburit en toalett med separat vattenspolning för urin respektive fekalier. Denna ser ut som en kon-

ventionell toalett förutom att det framför vattenspegeln finns en låg tröskel som samlar upp och avleder urinen. Urin och spolvatten uppsamlas och lagras i en nedgrävd tank medan fekalierna tas om hand separat. De dubbelspolande urinsorterande toaletter som för närvarande marknadsförs är "WM-ekologen" och "Dublekten".

Vid återcirkulation av toalettavfall till odling måste risken för spridning av patogena mikroorganismer beaktas. I det urinsorterande systemet skall fekalierna inte komma i kontakt med urinen. Förekomst av mikroorganismer och potentiella patogena sådana är koncentrerad till fekalierna medan urinen i regel inte innehåller sjukdomsalstrande mikroorganismer då den utsöndras. Urin anses av många vara steril vilket dock är felaktigt. Urin innehåller normalt  $10^2$ - $10^4$  organismer per ml som kommer från urinrörets s.k. normalflora (Brooks, 1989). Det urinsorterande systemets utformning innebär viss risk för inblandning av fekalier med urinen vilket därmed också medför risk för inblandning och spridning av patogena mikroorganismer till omgivande miljö (Svensson, 1993).

Syftet med detta examensarbete är att undersöka urins lämplighet som gödselmedel främst från hygienisk synpunkt samt översiktligt utgående från dess innehåll av växtnäring och tungmetaller. Detta görs genom att kontrollera förekomsten av fekala indikatororganismer i ett antal befintliga urinsorterande anläggningar samt genom att tillsätta indikatororganismer och patogena organismer till urinprov för att studera deras överlevnad. Urinens kemiska sammansättning undersöks genom analys med avseende på växtnäringsämnen och tungmetaller.

## LITTERATURÖVERSIKT

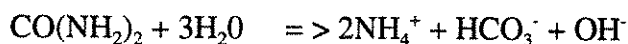
### Urinens sammansättning

Urinens koncentration av olika ämnen vid utsöndring från kroppen skiljer sig mellan olika individer och beror bl.a. på kostens sammansättning (Feachem m.fl., 1983). Normalt förekommande ämnen och koncentrationer i urin anges i tabell 2.

Tabell 2. *Komponenter i urin (Guyton, 1987)*

Ämne	Koncentration (mg/l)
Na <sup>+</sup>	2944
K <sup>+</sup>	2346
Ca <sup>2+</sup>	96
Mg <sup>2+</sup>	182
Cl <sup>-</sup>	4750
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1584
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1078
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	2374
Urea	1820
Urinsyra	42
Kreatinin	196

Då urin utsöndras finns kvävet främst i form av urea (tabell 2) som är en amid och restprodukt vid proteinmetabolismen (Hart, 1987). Vid lagring sker normalt en förändring av kvävet förekomstform. Urea bryts ned under bildning av ammonium- och hydroxidjoner (Bock & Kissel, 1988). Då urin utsöndras har det ett pH-värde på omkring 6 (Guyton, 1987). Nedbrytning av urea medför att pH-värdet höjs p.g.a. bildning av vätekarbonat och hydroxidjoner med ammoniakbildning som följd.



Nedbrytning av urea katalyseras av enzymet ureas som förekommer i ett flertal tarmbakterier och urinvägspatogener bl.a. *Klebsiella*, *Proteus* och *Yersinia* (Holt, 1994). Ureasaktiviteten är som högst inom temperaturintervallet 10-17°C (Freney & Simpson, 1983).

Jämvikten mellan ammoniak och ammonium är starkt pH beroende. Andelen ammoniak i en lösning med pH 6, 7, 8 och 9 är i storleksordningen 0.1, 1, 10, och 50 (Bock & Kissel, 1988). Ammoniak som är löst i vätska står också i jämvikt med den omgivande luftens



ammoniak. Förhållandet mellan ammoniak i gas respektive löst i vätska varierar med temperaturen. Andel i gasform ökar med ökande temperatur (Freney & Simpson, 1983). Om ammoniakhalten i vätskan ökar och om luftcirkulationen ovanför vätskeytan är stor finns risk för ammoniakavgång (Bock & Kissel, 1988). Enligt en undersökning utförd av Pettersson (1995) var upptaget av kväve i ovanjordiska delar av en växt med urin som kvävekälla 42 % jämfört med 53 % för ammoniumnitrat. Det sämre upptaget förklarades med att förlusterna var ca 7 % i de led som gödslats med urin, medan förluster från led gödslade med ammoniumnitrat var försumbara (Pettersson, 1995).

Många olika faktorer kan påverka källsorterad urins sammansättning av näringsämnen, tungmetaller och innehåll av mikroorganismer. Ett stort intag av protein med kosten medför bl.a. en högre andel kväve i urinen. Urinens näringsammansättning är därmed för vegetarianer olik den för de som konsumerar även kött (Feachem m.fl., 1983). Tobak innehåller kadmium och rökare anses utsöndra viss del av detta med urinen. Då konstruktionen av de urinseparerande toalettstolar som finns idag inte är optimal finns risk för inblandning av fekalier till den sorterade urinen. Mängden mikroorganismer i den lagrade urinen kan tänkas påverkas av rengöringsmedel som används för rengöring av toaletten, då dessa har en viss bakteriedödande effekt (Wolgast, 1992).

### Mikroorganismer och toalettavfall

Urin innehåller normalt inte sjukdomsframkallande mikroorganismer, förutom i samband med urinvägsinfektion. Med avföringen däremot utsöndrar en frisk person mellan  $10^{11}$  -  $10^{12}$  bakterier per gram fekalier. Risken att bli infekterad vid spridning av mikroorganismer med avföring beror bl a på om personer anslutna till systemet är sjuka eller smittbärare, antalet patogena organismer som utsöndras, hur antalet förändras med tiden (avdödning-tillväxt) samt hur stor dos av patogenen som krävs för att infektera en person (Feachem m.fl., 1983).

Som det urinsorterande systemet idag är utformat finns risk för viss inblandning av fekalier till den separat omhändertagna urinen, vilket därmed också innebär risk för spridning av patogena mikroorganismer till odling. Risken att bli infekterad är via intag av kontaminerade produkter samt vid hantering och spridning av urin till åkermark. Infektion kan även spridas genom inandning av aerosoler (Stenström, 1995).

### Patogena organismer i avföring

Infektioner sprids med fyra olika organismgrupper, bakterier, virus, parasitära protozoer och maskar. Diarre är ett vanligt symptom på bakteriella infektioner i kroppen. Om infektionen är lokaliserad till mag- och tarmkanalen kommer utsöndringen huvudsakligen att ske med avföringen men om invasion skett i kroppen kommer utsöndring även att ske med urinen (Feachem m.fl., 1983).

Protozoer kan orsaka diarre och utsöndras med avföring. I Sverige förekommande arter är bl.a. *Entamoeba histolytica* och *Giardia lamblia*. Parasitära maskar som sprids med avföring förekommer huvudsakligen i tropiska länder men ett fåtal kan även förekomma i vårt klimat. Spridning av dessa sker framförallt via avföring. Ett undantag är *Schistosoma*

*haematobium* som också kan spridas med urin och som förekommer i tropiska länder (Stenström, 1995).

### Infektionsdoser

Infektionsdosen, d.v.s det antal organismer som krävs för att ge upphov till sjukdom varierar mellan olika patogena organismer, från några få organismer för virus och parasiter till många tusen till miljoner, för många tarmbakterier. För *Campylobacter* har man rapporterat infektionsdoser på 500 bakterier. För toxinbildande, enteropatogena eller enteroinvasiva *E. coli* krävs vanligen höga halter för att ge upphov till sjukdom. Doserna ligger mellan  $10^7$ - $10^9$  organismer. Infekterade personer kan utsöndra  $10^8$ - $10^9$  av dessa bakterier per gram avföring. Tiden för utsöndring är vanligen 3-5 dagar men kan uppgå till 3 veckor. Infektionsdosen för *Salmonella* kan variera mellan 100 upp till  $10^5$  och i vissa fall upp mot  $10^9$  beroende på stam och hälsotillstånd hos den infekterade personen (Feachem m.fl., 1983).

Tabell 3. Exempel på infektionsdoser för människa av tarmpatogena bakterier. Tabellen anger kvoten mellan antalet infekterade personer och antalet testade (The National Research Council, 1977)

Typ av tarmbakterier	Antal bakterier i infektionsdosen							
	$10^1$	$10^2$	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$10^6$	$10^7$	$10^8$
<i>Shigella dysenteriae</i>								
Stam M131	1/10	2/4	7/10	5/6				
Stam A-1		1/4		2/6				
<i>Shigella flexneri</i>								
Stam 2A		6/33	33/49	66/87	15/24			
<i>Salmonella typhi</i>								
Stam Quail			0/14		32/116		16/32	7/8
<i>Vibrio cholera</i>								
Stam Inaba				11/13	45/52			2/2
Enteropatogena <i>E. coli</i>								
Stam 4608				0/5		0/5		4/8

För många virus är infektionsdosen endast 1-10 viruspartiklar. Under den mest akuta infektionsfasen kan mer än  $10^6$  viruspartiklar utsöndras per gram avföring. Tiden för utsöndring varierar för olika virustyper från ett par veckor till 3 - 4 månader (Stenström, 1995).

### Överlevnad och tillväxt

Överlevnaden av mikroorganismer i miljön är mycket komplex och beror bl.a. på organismernas förmåga att anpassa sig till skiftande förhållanden. Denna miljöanpassning innebär ibland att förmågan att infektera människor går förlorad. Detta har visats för bl a *Campylobacter*, *Yersinia* och *Salmonella*. Vid anpassning till rådande miljöförhållanden kan vissa bakterier initialt minska i antal för att sedan kunna uppförökas i djur såväl som i livsmedel. Under speciala omständigheter kan patogena organismer som *Salmonella*, *E.coli*, *Campylobacter* och toxinbildande stammar av *Aeromonas* tillväxa i miljön utanför tarmen (Stenström, 1995). Vad gäller virus kan dessa inte föröka sig i den omgivande miljön. De behöver alltid en värdcell för sin förökning. De kan dock vara mycket motståndskraftiga för miljöförändringar (Stenström & Hoffner, 1981).

Faktorer som styr överlevnaden av mikroorganismer i den yttre miljön är temperatur, fuktighet, solljus, pH, organiskt material och interagerande flora. Överlevnaden är normalt längre vid lägre temperaturer, högre vattenmättnad och tillgång till organiskt material. Solljus har en negativ effekt på överlevnaden bl.a. beroende på att solljuset medför skador på cellmembranen som i sin tur gör bakterien mer känslig för förändringar av pH och salthalt (Sinton m.fl., 1994). Konkurrens och antagonism från andra bakterier liksom predation från protozoer och andra högre organismer kan också medverka till reduktion av antalet bakterier, framförallt i marken. Överlevnaden av patogener som befinner sig på grödor är i regel mycket kortare jämfört med överlevnaden i marken (Feachem m.fl., 1983; Mara & Cairncross, 1989).

I grundvatten överlever flertalet organismer längre jämfört med organismer i ytvatten. Detta förklaras av att grundvattnet i regel är svalare och att organismerna där inte utsätts för solljus (Feachem m.fl., 1983).

Optimalt pH för många bakterier ligger mellan 6-8 (Holt, 1994). Avvikelse från detta intervall kommer därför att påverka överlevnaden. En höjning av pH till över 10 är ett mycket effektivt sätt att reducera framförallt gramnegativa bakterier. I sura torvjordar med pH värden omkring 3 sker också en snabb avdödning (Brock & Modigan, 1991). Virus påverkas inte lika kraftigt av pH variationer som bakterier (Gerba & Bitton, 1984).

### Transport

Markens porstorlek och bakteriers och virus förmåga att adsorbera till partiklar i marken är den huvudfaktor som bestämmer transporten av bakterier och virus i marken (Gerba & Bitton, 1984). Under vattenmättade förhållanden kan dessa transporteras över mycket större avstånd än under omättade förhållanden. Det huvudsakliga hindret mot spridning av virus genom marken är adsorption till fasta ytor (Stenström & Hoffner, 1981).

## MATERIAL OCH METODER

### Försöksuppläggning

#### *Hygienisk analys*

##### Förstudie

I en förstudie för att testa metodiken för odling av bakterier och fager i urin undersöktes mängd *E.coli*, fekala streptokocker och colifager i ett urinprov som hade lagrats ljus en månad i rumstemperatur.

##### Grundförsök

Den hygieniska kvaliteten på urinlösning (urin + spolvatten) från sju urinsorterande anläggningar bedömdes utifrån dess innehåll av indikatororganismer. I grundförsöket analyserades urin med avseende på mängd *E.coli*, fekala streptokocker och bakteriofager (colifager) som indikatorer på fekal inblandning.

##### Överlevnadsförsök

Överlevnaden av organismer som sattes till ett samlingsprov (blandning med lika delar urin från samtliga av de sju undersökta anläggningarna) undersöktes i ett antal överlevnadsförsök. Patogena bakterier (*Salmonella* och *Campylobacter*), indikatororganismer (*E.coli*, fekala streptokocker och bakteriofager) samt fekalier sattes till separata delar av samlingsprovet. Överlevnaden av de tillsatta organismerna följdes under sex veckor vid två olika förvaringstemperaturer, 4 respektive 20° C.

Tabell 4. *De olika delarna i den hygieniska analysen*

Benämning	Undersökt
Förstudie	Urinprov från en individ, för att testa metodiken. Indikatororganismer ( <i>E. coli</i> , fekala streptokocker, bakteriofager).
Grundförsök	Urinlösning från sju urinsorterande anläggningar. Indikatororganismer ( <i>E. coli</i> , fekala streptokocker, bakteriofager).
Överlevnadsförsök	Samlingsprov med urin från de undersökta anläggningarna. Tillsats av: indikatororganismer ( <i>E. coli</i> , fekala streptokocker, bakteriofager), patogena organismer ( <i>Campylobacter</i> , <i>Salmonella</i> ) och fekalier ( <i>E. coli</i> och fekala streptokocker).

Som komplement till ovanstående försök undersöktes också antalet indikatororganismer i vatten utgående från reningsverk. Detta för att få en "känsla för" om halterna av mikroorga-

nismer i urinlösningen var höga eller låga. Prover togs även i källsorterad urin som lagrats i slutna kärl i 1, 2, 3 och 12 månader efter tömning av en urintank. Överlevnaden av *E. coli* och fekala streptokocker undersöktes i detta fall.

### *Kemisk analys*

Källsorterad urinlösning undersöktes med avseende på dess innehåll av växtnäringsämnen och tungmetaller samt pH-värde, konduktivitet och torrsubstanshalt. Kvävet i urinlösningen förväntades finnas i form av urea och ammonium/ammoniak. Totalkväve, ammonium kväve och i vissa prover urea-kväve analyserades därför.

### **Provtagning**

Provtagning från sju urinsorterande anläggningar för den hygieniska analysen skedde i oktober-94 (provtagning I) och maj -95 (provtagning III). P.g.a. avståndet mellan anläggningarna kunde provtagning endast ske från två till tre anläggningar per dag. Odling av mikroorganismer i urinlösning påbörjades dagen efter provtagningen och analysen pågick därefter under fyra dagar. Två bottenprover och två ytprover avsågs att tas vid respektive anläggning. Detta var inte möjligt i alla tankarna, då fyra av dessa nyligen hade tömts. Prover togs m.h.a. sterila 50 ml engångssprutor av plast. Dessa fästes på en egentillverkad provtagare och fylldes i sterila glasflaskor. I samband med provtagningen mättes urinlösningens temperatur, pH och konduktivitet. Provflaskorna placerades direkt efter provtagningen i kylväskor för transport till laboratoriet och förvarades där i kyl för fortsatt analys dagen efter.

I flera urintankar noterades en bottensats som kan tänkas bestå av bl.a. fekalier som hamnat på "fel plats", jord, växtmaterial och dylikt som trillat ned i öppningen på den nedgrävda tanken samt av utfällningar ur urinlösningen. Saltavlagringar har också noterats i ledningarna för urin. Troligen består därför delar av bottensatsen också av sådana utfällningar. Prov för växtnärings- och tungmetallanalyser togs från fyra anläggningar i december-94 (provtagning II) och från sex av de nedan beskrivna anläggningarna i maj-95 (provtagning III). För att få homogena prover bestående av urinlösning och bottensats blandades lösningen i ca 10 minuter med hjälp av en centrifugalpump, (SEH-50X, 600 l/min, 30 m vattenpelare vid 3600 rpm). Urin fylldes i syradiskade plastflaskor och förvarades svalt över natten och lämnades för analys vid KM-lab i Uppsala dagen därpå.

#### **Provtagning I Okt. -94**

Provtagning i sju anläggningar för hygienisk analys.

#### **Provtagning II Dec. -94**

Provtagning i fyra anläggningar för kemisk analys.

#### **Provtagning III Maj -94**

Provtagning i sex anläggningar för både hygienisk- och kemisk analys.

## Provplatser

Nedanstående sju provplatser med urinsorterande system valdes på grund av att de ligger inom ca 200 km från Uppsala och att urintanken skulle varit tömd minst en gång före provtagning I. Detta ansågs viktigt eftersom bakteriehämmande substanser kan finnas i nya tankar vilka i regel är gjorda av glasfiberarmerad plast.

### *Gustavsberg*

Ett enfamiljshushåll utanför Gustavsberg bestående av två vuxna. Toaletten är dubbelspolande av typ "Dubletten" och installerades då huset byggdes 1992. Användarna är icke rökare och inte vegetarianer. Rengöring av toaletten sker med "vanligt toalettrengöringsmedel". Urintanken var ny vid inköp och dess volym är 3 m<sup>3</sup>. Den töms regelbundet under växtsäsongen. Urinen sprids i den egna trädgården.

### *Nedre Tortuna*

I ett enfamiljshushåll utanför Västerås installerades en enkelspolande WM-toalett av plast i januari 1993. Hushållet består av två vuxna, som båda är rökare, och två barn. En vuxen är också vegetarian. Toaletten rengörs med "vanligt toalettrengöringsmedel" eller såpa. Urinen leds till en 3 m<sup>3</sup> tank som var begagnad vid inköp. Tanken hade före provtagning I tömts två gånger och den sista tömningen skedde endast några dagar före denna provtagning. Urintanken har dock inte tömts mellan provtagning II och III.

### *Stensund*

Stensunds folkhögskola har två urinseparerande WM- toaletter, en enkel- och en dubbelspolande som till största delen fungerar som visnings- och besökstoletter. Toaletterna används också regelbundet av två personer. Urinen blir sannolikt mer utspädd genom att många personer testat spolningen utan att använda toaletten. Toaletterna installerades under 1993 och tanken hade tömts flera gånger. Urintanken är endast 300 liter och var begagnad vid inköp. Urinen pumpas upp och lagras i slutna plasttunnor för att sedan spridas på åkermark hos en ekologisk odlare i trakten. Botten- respektive ytprover togs från tanken. Prov togs även från tunnorna med urin som lagrats i 1, 2, 3 respektive 12 månader.

### *Svedden*

I ett tvåfamiljshus utanför Gimo finns två dubbelspolande WM toaletter installerade sedan början av 1994. Toaletterna rengörs med "vanligt toalettrengöringsmedel". Urintanken var ny vid inköp och dess volym är 6 m<sup>3</sup>. Innan systemet var färdiginstallerat samlades BDT vatten samt allt toalettavfall i tanken vilket medförde att den blev kontaminerad med fekalier. Tanken tömdes sista gången innan provtagning I i slutet av augusti 1994. I början av december -94 tömdes den igen vilket medförde att provtagning II inte kunde genomföras där. Proverna såg utspädda ut vilket kan bero på att användarna ofta använ-

der sig av fekaliespolningen istället för urinspolningen eftersom man tycker att urinspolningen rengör för dåligt.

### *Tuskö*

I ett enfamiljshus installerades en enkelspolande WM-toalett 1992. Familjen som består av tre personer äter ej kött och är icke rökare. Toaletten rengörs med ekologiskt rengöringmedel eller vatten. Tankens volym är 2 m<sup>3</sup> och hade tömts en gång innan provtagningen. En bonde i trakten hämtar urinen och fekalierna för att sprida på åkermark. Vid provtagningen noterades avlagringar på botten. Urintanken tömdes strax efter provtagning I och hade inte tömts igen innan provtagning III.

### *Åkesta*

Åkesta ekoby utanför Västerås byggdes 1990 och består av 28 bostadsrättslägenheter. I varje lägenhet finns en toalett för fekalier med en toalett för urin bredvid. Fekalierna hamnar i ett multrum medan urinen leds till en av fyra gemensamma tankar som totalt rymmer 40 m<sup>3</sup>. Det var beräknat att tankarna skulle tömmas en gång per år men för närvarande tömmer man tankarna med någon månads mellanrum. Detta beror främst på att vatten läcker in i ledningar och tankar.

### *Öster Färnebo*

I ett av elevhemmen på folkhögskolan installerades i april -94 två dubbelspolande WM-toaletter. Toaletterna rengörs med ekologiskt rengöringsmedel. Urintanken var ny då den installerades och dess volym är 6 m<sup>3</sup>. Den hade inte tömts någon gång innan provtagningen. Man har avtal med en bonde i trakten som skall hämta urinen för att sprida på åkermark. Enbart bottenprover togs eftersom det endast fanns lite urin i tanken vid provtagningstillfälle I och III. Urintanken tömdes senast i november -94 och hade inte tömts innan provtagning III.

## **Metod - hygienisk analys**

### *Grundförsök och förstudie*

Termotoleranta koliformer och presumtiva *E. coli* analyserades enligt Svensk Standard (1992), SS 02 81 67, för vattenprov. 0,1 ml av urinlösningen (spädd 10, 100 resp. 1000 gånger) ströks på M-FC substrat. Kolonier med typiskt utseende (blå) som vuxit ut efter inkubering i 24 timmar vid 44°C indikerar termotoleranta koliformer.

För att påvisa presumtiva *E. coli* plockades fem kolonier från M-FC plattor som sattes till rör med LTLNB medium (Laktos Trypton Lauryl Sulfat Buljong) och inkuberades i 24 timmar vid 44°C. Presumtiva *E. coli* bildar gas från laktos och indol från tryptofan. Indolbildning indikerades genom tillsatts av ca 0,5 ml Kovacs reagens. Antal typiska kolonier

på M-FC substraten räknades och presumtiva *E. coli* per ml urinlösning beräknades med utgångspunkt från resultaten i konfirmeringstesten.

Fekala streptokocker analyserades enligt Svensk Standard (1986), SS 02 81 79, för vatten. Urinlösningen späddes 10, 100 och 1000 gånger och 0,1 ml från vardera spädning ströks på ES substrat som är specifikt för fekala streptokocker. Rödbruna och lila kolonier som bildats efter inkubering i 48 timmar vid 35°C indikerar fekala streptokocker. För konfirmering av fekala streptokocker undersöktes katalasreaktion och förmågan att hydrolysera eskulin. Fem kolonier från ES mediet renströks på oselektivt substrat (jästpeptonagar) och inkuberades i 24 timmar vid 35°C. På de renstrukna bakterierna gjordes ett katalastest genom att tillsätta 3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Fekala streptokocker är katalasnegativa och utvecklar inte gas vid tillsats av väteperoxid. För att säkert skilja fekala streptokocker från icke fekala ströks kolonier från ES substrat på Eskulin agar platta. Plattorna inkuberades i 24 timmar vid 35°C. Mörkbrun till svart utfällning i substratet beror på fekala streptokockers förmåga att hydrolysera eskulin till 6,7-dihydroxykumarin som reagerar med järn(III)-joner. Antalet kolonier på ES mediet räknades och antalet konfirmerade fekala streptokocker per ml urinlösning beräknades med utgångspunkt från resultaten i oxidas- och eskulintesten.

För bestämning av antalet Colifager i urinlösningarna odlades värd bakterien *E. coli*-C i ca 5 ml NB buljong över natten vid 35°C. 1 ml av denna förkultur sattes dagen efter till ca 50 ml NB buljong och inkuberades ytterligare 4 timmar vid 35°C. Urinlösningen späddes och till 1 ml av vardera spädning (1, 10 och 100) tillsattes 0,5 ml värdkultur (*E. coli*-C) och 8,5 ml softagar (1/3 blodagarbas och 2/3 NB buljong). 2 ml av denna blandning överfördes till petriskålar med blodagarbas. Plattorna med den tillsatta lösningen med urinprov, värdkultur och softagar fick stelna på plant underlag och inkuberades sedan vid 37°C över natten. Antalet pfu (plaque forming unit) per ml urinlösning beräknades.

### Överlevnadsförsök

I överlevnadsförsöket sattes följande organismer till samlingsprov med urin från de ovan beskrivna anläggningarna:

*Escherichia coli*

Fekala streptokocker

*Salmonella typhimurium* (SH 4809)

*Campylobacter jejuni* (S201/94 1B)

Bakteriofag typ 28B/mottagarstam *Salmonella typhimurium* 5A

*E. coli* och fekala streptokocker från fekalier

Stammar av *E. coli* och fekala streptokocker isolerades från urinodlingarna i grundförsöket. *Salmonella typhimurium* (SH4809) samt bakteriofag typ 28B med dess värdstam *Salmonella typhimurium* (S201/94 1B) är från stamkollektion på SMI. *Campylobacter jejuni* (S201/94 1B) isolerades i samband med ett vattenburet utbrott i Kramfors. Till samlingsprov tillsattes även *E. coli* och fekala streptokocker med ett fekalieprov.

Stammarna ympades i buljong för att växa till över natten. Därefter centrifugerades bakteriesuspensionerna vid 5000 varv (4200 g) i 20 minuter. Supernatanten hälldes av och pelleten resuspenderades och centrifugerades två gånger i sötvattenmedium. Bakteriesu-



spensionerna inkuberades sedan svalt (4°C) i tre dygn i sötvattenmedium för att adapteras till en näringsfattig miljö innan de sattes till urin.

Ett samlingsprov med urin från samtliga anläggningar placerades i värmeskåp (60°C) i ett dygn för att eventuella mikroorganismer som fanns kvar i urinlösningen inte skulle störa avdödning eller tillväxt av de tillsatta stammarna. Samlingsprovet fördelades på 12 flaskor om vardera 150 ml urinlösning för vidare tillsats av bakterier, virus och fekalier.

De adapterade bakteriestammarna sattes till urinlösning i en koncentration av  $10^6$  bakterier/ml urinlösning. Mängd bakterier i bakteriesuspensionen bestämdes spektrofotometriskt ( $OD_{600}=0,4$ , motsvarar  $10^8$  bakterier) efter standardkurva. 1.5 ml av vardera bakteriesuspension sattes till två flaskor, vilka inkuberades i 4°C respektive 20°C. Direkt efter tillsättning togs ett nollprov som späddes 1000, 10 000 respektive 100 000 gånger. 0,1 ml av detta s.k. nollprov (prov som togs direkt efter tillsättning av organismerna till urin => tiden noll) ströks på för de olika stammarna specifika substrat, d.v.s. *E.coli* ströks på M-FC substrat, fekala streptokocker på ES, *Salmonella* på brilljantgrönt agar och *Campylobacter* på Campylobacter Blood Free selective agar (oxid). Plattorna inkuberades i 37°C i två dygn förutom *E.coli* som inkuberades i 44°C ett dygn. *Campylobacter jejuni* som är en mikroaerofil organism placerades under inkubationen i mikroaerofil miljö. Prover togs efter tillsättning (nollprov) och sedan dag 1, 2, 3 och 7.

Från en stamlösning med känd halt *Salmonella* fager (typ 28B) tillsattes även dessa till samlingsprovet i en koncentration av  $10^6$  fager/ml. Bestämning av antalet *Salmonella* fager i provet utfördes på samma sätt som för Colifager (se ovan). Som värdstam användes *Salmonella typhimurium* 5A. Flaskorna med de tillsatta bakteriestammarna respektive fagera inkuberades under tiden mellan provtagningarna i mörker i 4°C respektive 20°C. Prover togs direkt efter tillsättning (nollprov) och dag 1, 2, 3, 4, 7, 10, 14 och därefter en gång per vecka t.o.m. dag 35 för bakteriofagera och dag 49 för fekala streptokocker.

Ca 0,5 g fekalier löst i spädningsvätska sattes till två flaskor med vardera 150 ml samlingsprov som sedan inkuberades i mörker i 4°C respektive 20°C. Direkt efter tillsättning av fekalierna späddes urinlösningen 100, 1000 respektive 10 000 gånger. 0,1 ml av urinlösningen ströks direkt efter tillsättning på substrat specifikt för *E. coli* respektive fekala streptokocker (nollprov). Prover togs sedan dag 1, 2, 3, 7 och därefter en gång per vecka t.o.m. dag 42.

För att kontrollera antalet tillsatta organismer per ml från bakteriesuspensionerna respektive fekalierna späddes bakteriesuspensionerna med de tillsatta organismerna samt fekalieprovet i spädningsvätska och ströks på för de olika bakterierna specifika substrat.

Kontrollen gjordes i samband med att nollprover togs.

## Metod - kemisk analys

Kemiska parametrar analyserades på KM-lab i Uppsala enligt metoder i tabell 5. Ureaanalys skedde på Akademiska sjukhuset, avdelningen för klinisk kemi, i Uppsala.

Tabell 5. Metoder och mätosäkerhet för analys av kemiska parametrar i urin

Parameter	Metod	Mätosäkerhet
pH	KLK 1965:1	1%
Konduktivitet 25°C	SS 028123-1	
Torrsubstans	SS 028113-1	5%
Glödgn. rest	SS 028113-1	3%
Total kväve	SS 028101-1 Devardas legering	2%
Ammonium kväve	SS 02134-1	8%
Total fosfor	DIN 38406E22	3%
Kalium	DIN 38406E22	8%
Kalcium	DIN 38406E22	4%
Magnesium	DIN 38406E22	3%
Svavel	DIN 38406E22	
Bor	DIN 38406E22	10%
Natrium	DIN 38406E22	6%
Klorid	SS 028136-11	2%
Kvikksilver	SS 028175-1	10%
Kadmium	SS 028152-2	9%
Bly	SS 028152-2	3%
Krom	SS 028152-2	6%
Kobolt	SS 028152-2	5%
Nickel	SS 028152-2	5%
Mangan	SS 028152-2	3%
Koppar	SS 028152-2	3%
Zink	SS 028152-2	4%
Järn	SS 028152-2	4%
Molybden	St. Meth. 303C	
Urea	Merck Granu. test 100 Kebo	

## RESULTAT

### Hygienisk analys

#### *Förstudie*

I urinen som analyserades i förstudien och som lagrats i ca en månad i ljus och rumstemperatur uppmättes pH och konduktivitet till 6,9 respektive 1020 mS/m. Halterna av *E.coli* och fekala streptokocker bestämdes till  $1,4 \cdot 10^8$  respektive  $1,5 \cdot 10^8$  cfu /ml. Några tydliga plaque kunde inte noteras. Det är dock svårt att utesluta innehåll av fager med tanke på dålig tillväxt av värdstam.

#### *Grundförsök*

I grundförsöket togs prov från sju olika anläggningar under oktober-94 och från sex av dessa under maj -95. Urinen analyserades med avseende på halt *E. coli*, fekala streptokocker och colifager. Inte i något prov kunde colifager påvisas. Detta kan bero på avsaknad av colifager eller att metoden, som är avsedd för vatten, behöver modifieras för analys av urin. Resultat från grundförsöket och från provtagningen vid reningsverket redovisas i tabellerna 6 och 7. Halten av *E. coli* var låg i samtliga anläggningar medan halten av fekala streptokocker varierade från tämligen låga halter till ca 2000 i Åkesta, 5000 i Svedden och ända upp till ca 12000 cfu/ml i urinlösning från Stensund i provtagning I. Någon säker skillnad i förekomst av *E. coli* och fekala streptokocker i urin från de båda provtagningarna kunde inte noteras. pH värdena var i samtliga anläggningar höga, omkring 9 i flertalet, förutom i Åkesta, där pH uppmättes till 7,7. Konduktiviteten var högst i Öster Färnebo 3970 mS/m och varierade sedan ned till 1100 mS/m som uppmättes i Svedden. Även dessa värden stämde väl överens mellan de båda provtagningarna.

Vid provplatsen Stensund togs även prov i urinlösning som lagrats i slutna kärl utomhus i 1, 2, 3 respektive 12 månader efter tömning av urintanken. I tabell 8 redovisas resultaten.

Tabel 6. Resultat från grundförsöket, provtagning I samt provtagning vid reningsverk i Uppsala

Plats	<i>E.coli</i> (cfu/ml)	Fekala streptokocker (cfu/ml)	Colifager (pfu/ml)	pH	Kond. (mS/m, 25°C)
<u>Gustavsberg</u>					
Yta	< 1	7	< 3	9,2	1440
Botten	< 1	22	< 3	9,1	1610
<u>Stensund</u>					
Yta	1	4000	< 3	9,0	1860
Botten	90	12000	< 3	9,0	1830
<u>Svedden</u>					
Botten	10	5000	< 3	8,4	1100
<u>Tortuna</u>					
Botten	< 1	8	< 3	8,5	2290
<u>Tuskö</u>					
Yta	< 1	7	< 3	9,0	2080
Botten	< 1	25	< 3	8,9	1960
<u>Åkesta</u>					
Botten	20	2000	< 3	7,7	1220
<u>Öster Färnebo</u>					
Botten	< 1	10	< 3	9,0	3970
<u>Reningsverk i Uppsala</u>					
utgående vatten	520	86	254	7,3	

Tabell 7. Resultat från grundförsök, provtagning II

Plats	<i>E.coli</i> (cfu/ml)	Fekala streptokocker (cfu/ml)	Colifager (pfu/ml)	pH	Kond. (mS/m, 25°C)
<u>Gustavsberg</u>					
Yta	< 1	15	< 3	8,8	--
Botten	< 1	800	< 3	9,0	1710
<u>Stensund</u>					
Yta	< 1	2700	< 3	8,2	2130
Botten	< 1	13000	< 3	8,1	2030
<u>Svedden</u>					
Botten	10	5000	< 3	8,7	1450
<u>Tortuna</u>					
Botten	< 1	< 1	< 3	--	--
Yta	< 1	< 1	< 3	--	--
<u>Tuskö</u>					
Yta	< 1	< 1	< 3	9,0	2000
Botten	< 1	20	< 3	8,9	1910
<u>Öster Färnebo</u>					
Botten	< 1	64	< 3	--	--

Tabell 8. Resultat från analys av urinlösning som lagrats separat i en, tre respektive tolv månader, från provplatsen Stensund

Lagringstid (månader)	<i>E.coli</i> (cfu/ml)	Fek. streptokocker (cfu/ml)	pH
1	<1	234	8,7
2	<1	90	8,8
3	<1	30	8,7
12	<1	<1	8,7

## Överlevnadsförsök

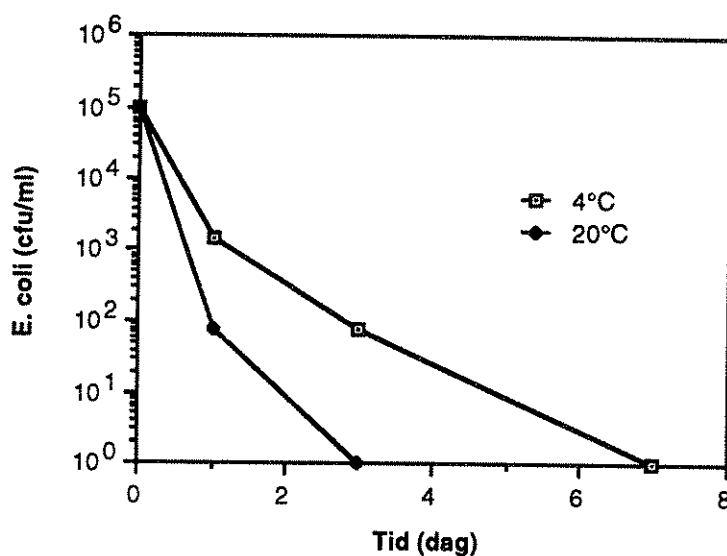
I kontrollprover över mängd bakterier i bakteriesuspensionerna samt i det uppslammade fekalieprovet som sattes till samlingsprov med urin uppmättes följande mängd bakterier (tabell 9).

Tabell 9. Antalet mikroorganismer per ml i kontrollprover med bakteriesuspensioner och fekalier som tillsattes till samlingsprov med urin

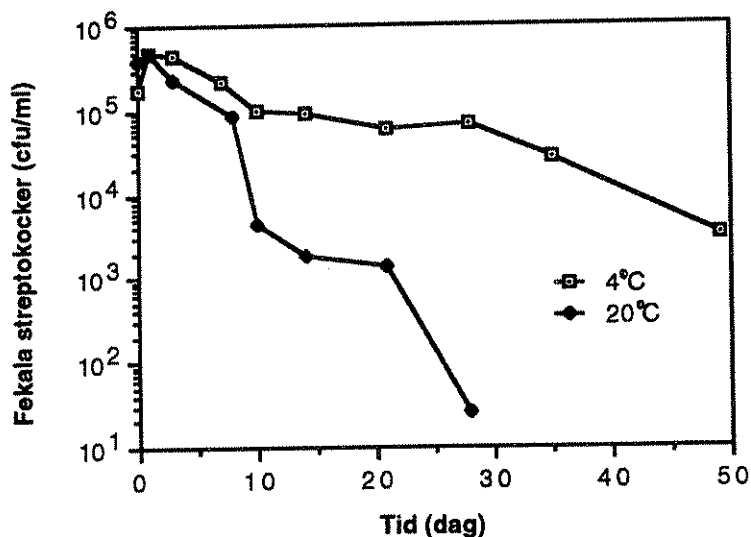
Typ av tillsats	Bakterie	Mängd (cfu/ml)
Bakteriesuspension	<i>E. coli</i>	$2,9 \cdot 10^6$
	Fek. streptokocker	$2,6 \cdot 10^6$
	<i>S. typhimurium</i>	$3,3 \cdot 10^6$
	<i>C. jejuni</i>	$5,5 \cdot 10^5$
Fekalier	<i>E. coli</i>	$5,4 \cdot 10^5$
	Fek. streptokocker	$1,6 \cdot 10^5$

I samlingsprovet med urin för överlevnadsförsöket uppmättes pH och konduktivitet till 9,0 respektive 1750 mS/m.

Överlevnaden av indikatororganismerna *E. coli* och fekala streptokocker illustreras i figur 1 och 2. Avdöningen av *E. coli* var mycket snabb. Efter tre dagar kunde inga *E. coli* återfinnas i urinlösningen som lagrats i 20°C. Detsamma inträffade efter 7 dagar i urinlösningen som lagrats i 4°C (fig. 1). Överlevnaden av fekala streptokocker i urinlösningen var påtagligt bättre (fig. 2).

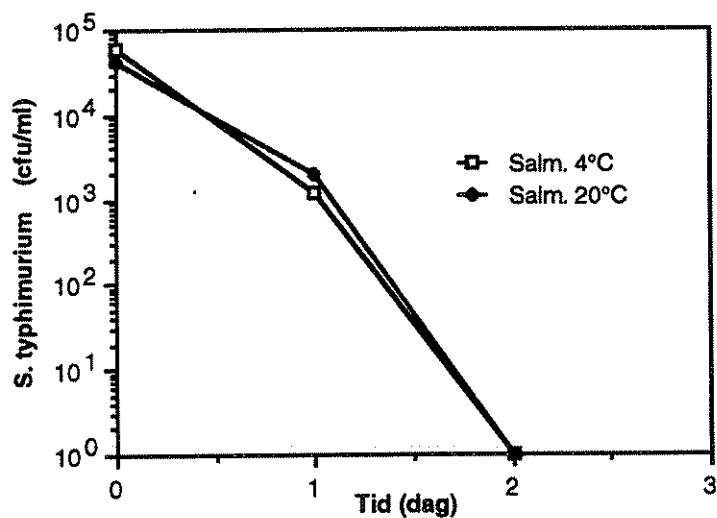


Figur 1. Överlevnad av *E. coli* i lagrad urinlösning vid 4°C respektive 20°C.



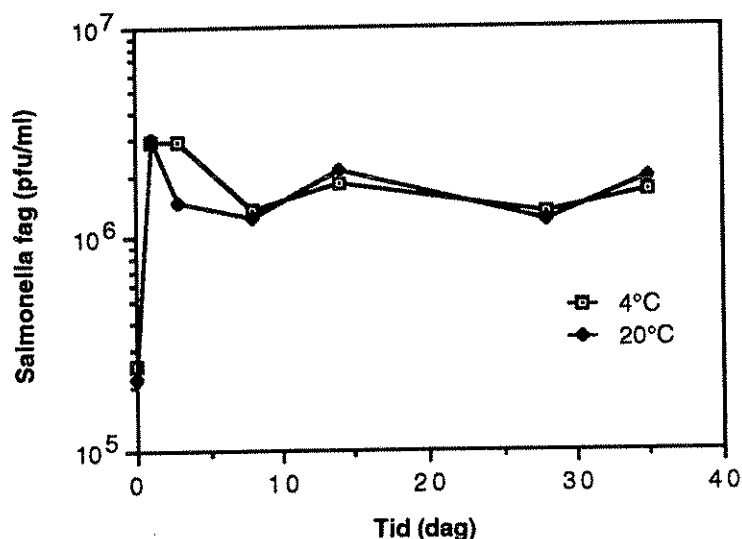
Figur 2. Överlevnad av fekala streptokocker i lagrad urinlösning vid 4°C respektive 20°C.

Överlevnaden av *Salmonella typhimurium* i samlingsprovet illustreras i figur 3 vilken visar på en mycket snabb avdödning. Efter dag 2 kunde *Salmonella* inte längre påvisas i urinen, oberoende av dess lagringstemperatur. Till samlingsprovet tillsattes också *Campylobacter jejuni*. Av dessa kunde några kolonier överhuvudtaget inte odlas fram ur urinlösningen.



Figur 3. Överlevnad av *Salmonella typhimurium* i lagrad urinlösning vid 4°C respektive 20°C.

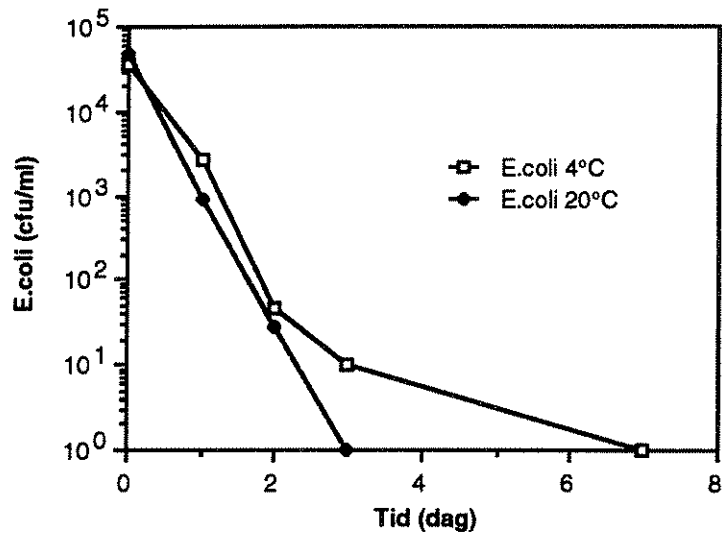
Som indikator på överlevnaden av virus i urin tillsattes en bakteriofag (*Salmonella typhimurium* typ 28B) vars överlevnad illustreras i figur 4. Halten *Salmonella* fager i samlingsprovet som inkuberades vid 20°C respektive 4°C har inte minskat nämnvärt efter 49 dagar.



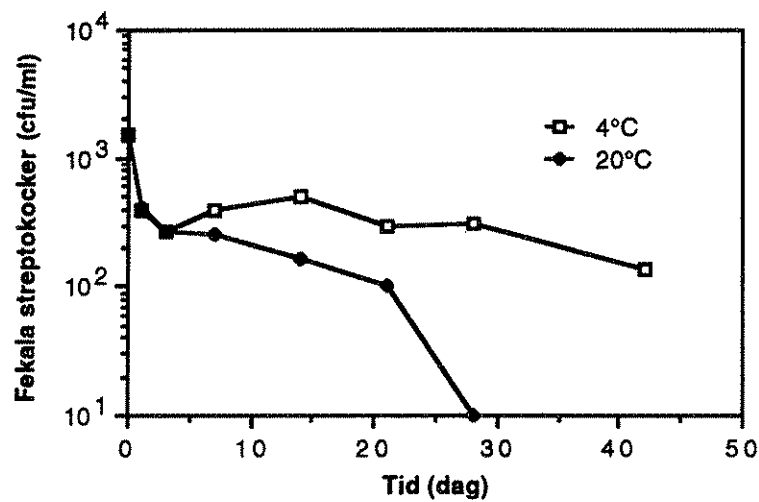
Figur 4. Överlevnad av bakteriofag (*Salomonella fag*) i lagrad urinlösning vid 4°C respektive 20°C.

Överlevnaden av *E.coli* och fekala streptokocker från fekalier som sattes till samlingsprovet med urin illustreras i figur 5 och 6. Resultaten överensstämmer med proven då *E.coli* och fekala streptokocker sattes till samlingsprovet var för sig samt med resultaten från grundförsöket. Avdödningen av *E.coli* går mycket snabbt. Efter sju dagar kunde inga *E.coli* återfinnas. Överlevnaden av fekala streptokocker var, som i det enstaka tillsättningsförsöket, betydligt bättre. Efter dag 42 kunde inga fekala streptokocker från provet som inkuberats i 20°C noteras. Vid lagring i 4°C hade antalet fekala streptokocker minskat från ca 10<sup>5</sup> vid tillsättning till ca 100 cfu/ml dag 42.





Figur 5. Överlevnaden av *E. coli* från fekalier i lagrad urinlösning, vid 4°C respektive 20°C.



Figur 6. Överlevnaden av fekala streptokocker från fekalier i lagrad urinlösning, vid 4°C respektive 20°C.

## Kemisk analys

Provtagning II skedde vid fyra av provplatserna; Gustavsberg, Nedre Tortuna, Stensund och Åkesta medan provtagning III skedde i Gustavsberg, Nedre Tortuna, Stensund, Svedden, Tuskö och Öster Färnebo.

Konduktivitet, pH värden, torrsubstanshalt och askhalt i urin från provplatserna anges i tabell 9. Ammonium och ammoniak ingår dock ej i torrsubstanshalten då dessa avdunstar under analys av just ts-halt. Åkesta skiljer sig från de övriga provplatserna med betydligt lägre värden för framförallt konduktivitet och ts-halt.

Totalkväve och ammoniumkväve i urinlösningarna från provplatserna anges i tabell 11. Totala innehållet av kväve varierade från 4670 mg/l urinlösning i Öster Färnebo ned till 300 mg/l i Åkesta. Andelen ammoniumkväve beräknat på totalhalten kväve var vid samtliga provplatser högt, mellan 85-94 %. Halten ureakväve varierade från 22,4 mg/l i Nedre Tortuna till ca 143 mg/l i Svedden vilket motsvarar 0,9, 1,6, respektive 7,3 % av totala kvävemängden.

Övriga växtnäringsämnen samt natrium och klor i den källseparerade urinlösningen anges i tabell 12. Urinlösning analyserades också med avseende på tungmetallinnehållet. Halterna för flertalet tungmetaller från provtagning II låg under detektionsgräns på grund analystekniska skäl. Detektionsgränsen var vid analys av dessa prover högre än vid analys av proverna från provtagning III. Resultatet från tungmetallanalyserna presenteras i tabell 13 (halterna av koppar, zink och järn redovisas i tabell 12).

Tabell 10. *Konduktivitet, pH, torrsubstanshalt och askhalt i lagrad urinlösning från provtagning II och III*

Provplats	pH	Kond. (mS/m)	Ts-halt (% av prov)	Askhalt (% av ts)
<u>Provtagning II</u>				
Gustavsberg	9,0	1649	0,60	82
Nedre Tortuna	8,5	2580	0,64	77
Stensund	8,8	1815	0,51	76
Åkesta	8,5	305	0,10	76
<u>Provtagning III</u>				
Gustavsberg	8,9	--	0,58	96
Nedre Tortuna	8,9	--	0,30	83
Stensund	8,8	--	0,54	89
Svedden	8,8	--	0,33	96
Tuskö	8,9	--	0,55	86
Ö. Färnebo	8,9	--	1,33	70

Tabell 11. *Innehåll av olika kvävefraktioner i lagrad urinlösning från provtagning II och III*

Provplats	Tot-N (mg/l)	NH <sub>4</sub> -N (mg/l)	NH <sub>4</sub> -N (% av tot-N)	Urea-N (mg/l)	Urea-N (% av tot-N)
<u>Provtagning II</u>					
Gustavsberg	1800	1700	94	--	--
Nedre Tortuna	4000	3400	85	--	--
Stensund	2700	2300	85	--	--
Åkesta	300	260	87	--	--
<u>Provtagning III</u>					
Gustavsberg	1820	1640	90	61,1	3,4
Nedre Tortuna	1570	1430	91	22,4	1,4
Stensund	2950	2710	92	67,2	2,3
Svedden	1950	1830	94	142,8	7,3
Tuskö	2680	2440	91	42,0	1,6
Ö. Färnebo	4670	4280	92	42,0	0,9

Tabell 12. Växtnäringsämnen, tungmetaller samt natrium och klor i urinlösning

Ämne (mg/l)	Gustavs- berg	Sten- sund	Svedden	Tortuna	Tuskö	Åkesta	Ö. Färnebo
<u>Prov- tagning II</u>							
Fosfor	216	245	-	237	-	37	-
Kalium	780	714	-	704	-	97	-
Kalcium	23	102	-	26	-	26	-
Magnesium	11	61	-	18	-	9	-
Svavel	280	170	-	250	-	44	-
Järn	0,7	1,0	-	12,8	-	0,8	-
Mangan	0,03	0,02	-	0,15	-	0,05	-
Koppar	0,60	1,63	-	0,56	-	0,09	-
Zink	0,19	0,38	-	0,45	-	0,08	-
Bor	0,5	0,3	-	0,3	-	0,07	-
Klor	1600	1150	-	1800	-	280	-
Natrium	1260	765	-	1152	-	170	-
<u>Prov- tagning III</u>							
Fosfor	210	255	135	97	262	-	725
Kalium	725	764	405	247	677	-	1370
Kalcium	19	83	24	29	56	-	139
Magnesium	6,6	55	1,4	9,3	7,7	-	218
Svavel	286	181	120	120	206	-	350
Järn	0,81	0,99	1,46	11,40	1,00	-	5,41
Mangan	0,013	0,017	0,040	0,15	0,15	-	0,039
Koppar	0,80	2,12	0,08	0,77	0,64	-	0,83
Zink	0,23	0,58	0,14	0,76	0,58	-	1,12
Bor	0,67	0,45	0,36	0,11	0,63	-	0,75
Klor	1740	1320	1350	1250	1850	-	3050
Natrium	1150	807	630	374	878	-	1300

Tabell 13. *Tungmetaller i urinlösning från provtagning II och III*

Ämne (ug/l)	Gustavs- berg	Sten- sund	Svedden	Tortuna	Tuskö	Åkesta	Ö.Färnebo
<u>Prov- tagning II</u>							
Bly	38	40	-	34	-	<20	-
Kadmium	<1	<1	-	<1	-	<10	-
Kobolt	<20	<20	-	<20	-	<20	-
Krom	<30	<30	-	<30	-	<20	-
Kvikksilver	<0,3	0,56	-	0,38	-	<0,5	-
Nickel	132	97	-	109	-	<20	-
<u>Prov- tagning III</u>							
Bly	20	40	<10	30	20	-	70
Kadmium	<1	<1	<1	<1	<1	-	<1
Kobolt	<5	10	3	8	11	-	3
Krom	9	11	7	19	9	-	29
Kvikksilver	0,13	0,79	0,09	0,31	0,44	-	2,4
Nickel	80	80	10	80	50	-	20

## DISKUSSION

### Hygieniska resultat

#### Grundförsök

I grundförsöket uppmättes varierande halter av fekala streptokocker i urin från samtliga anläggningar medan halten av *E. coli* genomgående var tämligen låg. Resultaten från de båda provtagningarna stämmer väl överens. De uppmätta halterna av indikatororganismer visar att inblandning skett av fekalier till urinen eller att en tillväxt skett i urinlösningen.

Vid tre av anläggningarna skiljer sig halterna av fekala streptokocker från övriga provplatser nämligen Stensund, Svedden och Åkesta. I Svedden samlades, innan systemet var färdiginstallerat, allt toalettavfall upp i urintanken, vilket innebär att den kan vara kontaminerad av fekalier. Toaletterna i Stensund används som besöks- och demonstrationstoalletter. Detta innebär att många olika personer utan någon vana av urinsorterande toalletter använder dessa vilket skulle kunna medföra en större inblandning av fekalier till urinen. Urintanken som används var också begagnad vid inköp och det är osäkert vad den använts till tidigare. Urintanken i Åkesta var nyligen tömd vid provtagningstillfället vilket innebär att provet till stor del bestod av bottenslam. De kemiska analyserna visar också att urinlösningen var mer utspädd än vid de övriga provplatserna. Detta påverkar troligen förekomsten och överlevnaden av fekala streptokocker i urinlösningen.

Halten av mikroorganismer i inkommande vatten till reningsverk är enligt SNV rapport 1956 (Stenström, 1987), omkring  $10^4$  organismer per ml för *E. coli*, fekala streptokocker och colifager. Under behandling i reningsverk reduceras halterna med omkring två tiopotenser (Stenström, 1987). Jämfört med innehållet av indikatororganismer i utgående reningsverksvatten innehåller den källsorterande urinen från flertalet undersökta anläggningar lägre halter.

#### Överlevnadsförsök

Resultaten från överlevnadsförsöken stämmer väl överens med resultaten från grundförsöket. Överlevnaden av fekala streptokocker var betydligt bättre än för *E. coli*, *Salmonella typhimurium* och *Campylobacter jejuni*.

Fekala streptokocker är grampositiva organismer medan *E. coli*, *Salmonella* och *Campylobacter* är gramnegativa. Gramnegativa bakterier har en komplex cellväggsstruktur med ett inre och ett yttre membran åtskilt av ett periplasm medan grampositiva organismer har en mer kompakt cellvägg till stor del bestående av peptidoglykan. I periplasmet hos gramnegativa organismer finns enzymer som har betydelse för jontransport in och ut från cellen. Skador i membranet förstör också de jontransporterande enzymerna vilket gör gramnegativa organismer mer känsliga för salt- och pH-förändringar jämfört med grampositiva organismer (Sinton m.fl., 1994). Cellväggen hos en grampositiv organism klarar fyra till fem gånger så högt osmotiskt tryck jämfört med gramnegativa organisms cellvägg. Fekala streptokocker kan t.o.m. tillväxa vid ett pH på 9,6 och en salthalt på 6,5 % NaCl (Holt, 1994). Den betydligt bättre överlevnaden av fekala streptokocker kan också bero på att *E. coli* oftast före-

kommer som enstaka celler medan fekala streptokocker i regel återfinns i form av par eller kedjor. Denna aggregering förbättrar dess överlevnad i skiftande miljöer (Sinton m.fl., 1994).

*Campylobacter* gick i de utförda försöken inte att odla fram ur utspädd urinlösning. *Campylobacter jejuni* är också dokumenterat känslig för höga pH värden och salthalter och överlever bäst i miljöer med pH mellan 6,0-8,0 (Humphrey, 1986; Korhonen, 1991). Enligt Blaser m.fl. (1980) överlever *C. jejuni* i urin som inkuberades vid 4°C upp till fem veckor, men vid 37°C endast 48 timmar (pH-värdet i urin som användes i försöket är dock okänt). Detta innebär dock att det finns en potentiell möjlighet för spridning av patogenen i miljön, då pH och salthalt hålls på en för organismen gynnsam nivå. Enligt Blaser m.fl. (1980) kan *C. jejuni* också överleva upp till fyra veckor i grundvatten.

Överlevnadsförsöket med bakteriofager visade att överlevnaden av tillsatta bakterievirus i den alkaliska urinlösningen var god. Efter 40 dagar kunde någon signifikant minskning av *Salmonella* fager inte påvisas. Detta betyder att om inblandning av patogena virus till den separerade urinen sker, finns stor risk för spridning av dessa till odling.

### *Faktorer som påverkar överlevnad*

En utspädning av urinlösningen kan antas påverka överlevnaden av framförallt *E. coli* och andra närbesläktade gramnegativa organismer genom att pH och konduktivitet reduceras. Enligt resultaten från grundförsöket var förekomsten av *E. coli* och fekala streptokocker högst där pH och konduktivitet, vid jämförelse med övriga provplatser, var lägst. Vid provplatsen i Stensund var dock halten av fekala streptokocker och *E. coli* (i bottenprovet) högt trots högt pH och relativt hög konduktivitet. Nedbrytning av urea till ammonium/ammoniak i den lagrade urinlösningen är naturligt då ett flertal vanliga tarmbakterier och urinvägspatogener innehåller enzymet ureas. Ureanedbrytningen har en pH-höjande effekt som negativt påverkar överlevnad och tillväxt av framförallt gramnegativa organismer.

Temperaturens inverkan på mikroorganismernas överlevnad i urin studerades i överlevnadsförsöken. Resultaten därav är tydligast för fekala streptokocker. Man ser där att minskning (avdödning) går betydligt snabbare vid 20°C jämfört med 4°C. Detta beror på att mikroorganismernas aktivitet minskar med minskad temperatur. Vid gynnsamma omgivningsbetingelser ökar dock tillväxthastigheten med stigande temperatur. Minimitemperaturen för tillväxt av *E. coli* är ca 7,5°C (Smith m.fl., 1994). Temperaturens inverkan på tillväxt eller avdödning har stor betydels för hur urinen bör lagras innan den sprids på åkermark.

Vid de provplatser i grundförsöket där höga halter av framförallt fekala streptokocker uppmätts är det svårt att säga om organismerna funnits i hög halt från början eller om tillväxt skett med tiden. I förstudien översteg halterna av *E. coli* och fekala streptokocker  $10^8$  organismer per ml urin (pH 6,9) efter en månads lagring. Detta visar att urin kan vara ett utmärkt tillväxtsubstrat så länge bl.a. pH hålls på en för mikroorganismerna gynnsam nivå. I Stensund där man lagrar urin i slutna kärl efter tömmning av urintanken, togs prov på urin som lagrats separat utan kontinuerlig tillförsel i 1, 2, 3 respektive 12 månader. Dessa prov visar på en reduktion av fekala streptokocker med tiden vilket är intressant och viktigt ur hygieniseringssynpunkt.

### *Metoder för hygienisk analys*

Inga colifager kunde påvisas i urinlösningen från någon provplats. Om detta beror på att den värdkultur av *E.coli*, som användes i försöket, växte dåligt då den blandades med urin från olika spädningar eller att det inte finns några bakterievirus i urinlösningen är oklart.

I och med *E.colis* dåliga överlevnad i lagrad urinlösning med höga pH värden kan man dra slutsatsen att *E.coli* inte är en lämplig indikatororganism i dessa sammanhang. En bra indikatororganism skall överleva bättre än potentiella patogener i provet.

### *Konventionellt-urinsorterande system*

Det konventionella systemet med avloppsreningsverk för hantering av toalettavfall anses som relativt säkert avseende risken för spridning av patogena mikroorganismer. De halter av bakterier och virus som släpps ut med utgående reningsverksvatten anses acceptabla. I det prov som togs vid Uppsala reningsverk i december-94 översteg halterna av framförallt *E.coli* uppmätta halter i urinlösning från de urinsorterande anläggningar som undersöktes. Även bakteriofager förekom i det utgående vattnet från reningsverket.

Det urinsorterande systemets utformning och skötsel är avgörande för risken för spridning av patogena organismer med urinlösningen. Toalettstolens utformning har betydelse för inblandning av fekalier till urinen. Lagringstemperatur och tid har sedan betydelse för avdödning och eventuell tillväxt av potentiella patogena organismer i urinen.

### *Ett hypotetiskt räkneexempel:*

Man vet att fekalier innehåller ca  $10^7$  fekala streptokocker per gram våtvikt. Om man i ett prov från en lagringstank uppmäter en halt av 100 fekala streptokocker per ml (vilket är troligt enligt resultat från grundförsök), skulle detta motsvara en inblandning av 10 mg fekalier per liter urin-vattenlösning.

En salmonellainficerad person utsöndrar ca  $10^8$  organismer per gram fekalier. Om infektionen håller i sig i 10 dagar och personen ifråga utsöndrar 10 l under denna tid, vilken späds till 40 l med spolvatten, skulle halten *Salmonella* i lagringstanken, vid 1000 liter vätska i den från början, uppgå till ca 40 000 organismer per liter urinlösning, om ingen avdödning sker. *Salmonella* avdödas dock snabbt enligt mina försök. Infektionsdosen är också relativt hög (från ca  $10^6$ - $10^9$  beroende på art). Virus är ett exempel som bättre visar på riskerna med denna urinlösning. Överlevnaden av dessa kan vara myckert god. Genom inblandning av fekalier överförs virus från infekterade personer. Under infektionsfas kan upp mot  $10^6$  viruspartiklar per gram avföring utsöndras, detta skulle motsvara ca 10 viruspartiklar per liter urinlösning om man räknar med en inblandning av 10 mg fekalier per liter urin-vatten lösning. Infektionsdosen för många virus som sprids från avföring är 1-10 viruspartiklar. Det är dock i detta sammanhang värt att åter nämna att uppmätta halter av bakterievirus i utgående vatten från reningsverket i Uppsala uppgick till 254 000 pfu per liter.



## Kemiska resultat

### *Kväve, lagring och förluster*

Det höga pH-värdet i den undersökta urinen är troligen ett resultat av ureanedbrytning med bildning av ammoniak. Risken för kväveförluster vid lagring och spridning av urinen är därmed påtaglig. Av totalkvävehalten i proverna fanns största delen i form av ammonium och ammoniakkväve. Dess andel varierade från 85 % i Nedre Tortuna till 94 % i Gustavsberg. Liknande resultat erhöles vid analys av humanurin utfört av Pettersson (1995). Pettersson återfann resterande delar av kvävet i form proteinkväve, samt spår av nitrit- och nitratkväve. Kväve i form av urea eller urinsyra kunde inte detekteras. En fullständig nedbrytning av urea kunde därmed fastställas. I urin som analyserades i denna undersökning återfanns dock urea-kväve i mängder som motsvarade 0,9% till ca 7 % av totalkvävehalten. En fullständig nedbrytning hade inte ägt rum.

Den stora variationen av kväveinnehållet i urinen från de olika provplatserna kan bero på bl.a. utspädning. I Åkesta har man problem med inläckage av vatten till lagringstankarna. Den exakta spolvattenvolymen är svår att fastställa och skillnader i spolvattenvolym skulle bl.a. kunna förklaras med att toaletterna i Gustavsberg, Nedre Tortuna och Stensund är av olika typ. I Stensund är en dubbelspolande "WM-toalett" installerad, i Gustavsberg finns en dubbelspolande "Dubletten" och i Nedre Tortuna finns en enkelspolande "WM-toalett". Det är troligt att utspädningen blir mindre med enkelspolande toaletter då det med en dubbelspolande toalett är lätt att använda fekaliespolningen även då toaletten bara används för urinerings. Detta skulle i så fall delvis förklara det höga kväveinnehållet i urinen från Nedre Tortuna. Under lagring kan också förluster av ammoniakkväve erhållas. Förlusterna kan bl.a. relateras till pH värdet. Vid provplatsen Nedre Tortuna med mycket högt kväveinnehåll i provtagning II uppmättes också lägre pH-värden än vid de övriga provplatserna. Det höga pH-värdet i Gustavsberg innebär att största delen av ammoniumkvävet finns i form av ammoniak med risk för betydande förluster i form av ammoniakavgång. Urinens transportsträcka till lagringstanken samt dess storlek kan också ha betydelse för kväveförlusterna då ett större luftutbyte ökar ammoniakavgången. Skillnaderna i kväveinnehåll kan också bero på skillnader i födointag. Ett större proteinintag medför högre halter av kväve i urinen men också av fosfor och svavel.

Förhållandet mellan kväve och kalium stämmer väl överens med förhållandet i många handelsgödselmedel medan innehållet av fosfor är lågt. Av toalettavfallets fosforinnehåll återfinns en betydande del i fekalierna. Genom återföring av även fekalierna till åkermark i form av avloppsslam skulle en mycket god recirkulation av samhällets organiska avfall uppnås.

### *Övriga växtnäringssämnen och tungmetaller*

Medelvärden av de uppmätta parametrarna från den kemiska analysen jämfördes med värden hämtade från SNV (1995) rapport 4425. Mängd växtnäringssämnen och tungmetaller i färsk urin anges där som g/person och dygn. För att jämföra värden uppmätta i denna undersökning med de i SNV:s rapport anges dessa i g per 4,1 liter urin-vattenlösning vilket beräknas vara den producerade volymen per person och dygn. Enligt SNV 4425 producerar en person

1 gram fosfor per dygn. Det genomsnittliga innehållet av fosfor från våra mätningar var 242 mg/l. Den producerade mängden kan därför beräknas vara  $(1000/242) = 4,1$  liter, om utsöndringen av fosfor enligt SNV antas vara korrekt.

Tabell 14. Jämförelse, uppmätta halter från denna undersökning (medelvärden från de olika mätningarna) med litteraturvärden från SNV (1995) rapport 4425. I de mätningar då halten låg under detektionsgräns används detektionsgränsen istället för uppmätt värde

Ämne	Uppmätt (mg/l)	Uppmätt (g/4,1 l)	SNV 4425 (g/pe dygn)	Förhållande (uppmätt/SNV 4425)
Kväve-tot	2444	10,1	11,0	0,92
Fosfor	242	1,0	1,1	1,00
Kalium	648	2,7	2,5	1,07
Kvikksilver	$0,59 \cdot 10^{-3}$	$2,4 \cdot 10^{-6}$	$3,0 \cdot 10^{-6}$	0,81
Kadmium	$9,0 \cdot 10^{-4} 1)$	$3,6 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-6}$	3,56
Bly	$0,032 2)$	$1,3 \cdot 10^{-4}$	$2,0 \cdot 10^{-6}$	66,83
Krom	0,014	$5,8 \cdot 10^{-5}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$	5,79
Nickel	0,073	$3,0 \cdot 10^{-4}$	$7,0 \cdot 10^{-6}$	43,16
Koppar	0,81	$3,4 \cdot 10^{-3}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$	33,59
Zink	0,45	$1,9 \cdot 10^{-3}$	$4,5 \cdot 10^{-5}$	41,47

1) 6 av 6 värden under detektionsgräns

2) 1 av 6 värden under detektionsgräns

De uppmätta halterna av framförallt kväve, fosfor och kalium stämmer väl överens med SNV:s i rapport 4425. Beträffande kadmium är den uppmätta halten högst 3,6 gånger högre jämfört med litteraturvärde. Antagligen är skillnaden mindre då den uppmätta kadmiumhalten är baserad på detektionsgränsen som aldrig nåddes och som i flera av analyserna låg onödigt högt. Den uppmätta blyhalten i denna undersökning var ca 67 gånger högre än litteraturvärdet. Bly används som mjukgörare i plaster m.fl. material men kan också återfinnas i lödningar av bl.a. vattenledningar. Om den höga halten beror på kontaminering av de material som kommit i kontakt med urinlösningen under lagring eller om det verkligen är utsöndad mängd med urinen går dock inte att säga utifrån denna undersökning. De uppmätta halterna för nickel, koppar och zink låg alla över detektionsgränserna, och halterna var 43, 34 respektive 42 gånger högre än litteraturvärdena. Vattenledningar samt provtagningsutrustning kan ha påverkat innehållet av dessa legeringsmetaller i urinlösningen vilket kan vara en förklaring till att de skiljer sig så markant från litteraturvärden. Halterna låg dock långt under de gränsvärden som gäller för avloppslam som återförs till åkermark (SNFS, 1994). I tabell 15 ges innehållet av tungmetaller i urinlösning som ett medelvärde från de 10 mätningarna, jämfört med gränsvärden för avloppslam.

Förhållandet mellan kadmium och fosfor var också mycket lågt jämfört med många andra organiska avfall. I de undersökta urinlösningarna var kvoten mg Cd/kg P, 3,6 och därmed ca 100 gånger lägre än många hushållskomposter (Jönsson, pers. medd.).

Tabell 15. *Tungmetaller i källsorterad humanurin jämfört med gränsvärden för avloppsslam*

Metall	Uppmätt halt (mg/kg ts)	Gränsvärde <sup>1)</sup> avloppsslam (mg/kg ts)
Kadmium	0,16	2
Kvikksilver	0,11	2,5
Bly	6	100
Krom	3	100
Nickel	13	50
Koppar	149	600
Zink	83	800

<sup>1)</sup> Avloppsslam för jordbruksändamål får användas endast om halten ligger under följande halter (SNFS,1994)

Innehållet av magnesium och kalcium vid provplatsen i Stensund skiljer sig från de övriga provplatserna genom betydligt högre halter. Detta kan bero på att totalhårdheten i ingående vatten är där omkring 16 dH°. Vattnet avhärddas normalt vilket medför att man kommer ned till en hårdhetsgrad på 5-6 dH°. Avhärddningen fungerar dock inte alltid tillfredsställande, speciellt då vattenförbrukningen är hög (Forsberg, pers. medd.).

### *Salthalt*

Konduktiviteten kan ses som ett mått på salthalten i urinlösningen. Dess höga värde och framförallt den höga koncentrationen av natrium och kloridjoner kan ha toxisk effekt på växter. Höga natrium- och kloridhalter kan orsaka näringsrubbnings, förgiftning och uttorkning, hög natriumkoncentration kan också innebära försämrade markstruktur (Kreuger,1986). Någon risk för ackumulering av salter i marken genom gödsling med humanurin föreligger dock inte. Såväl natrium som klorid lakas lätt ur marken med de tämligen höga nederbörderna i det svenska humida klimatet.

## LITTERATURFÖRTECKNING

- Blaser, M.J., Hardesty, H.L., Bradely, P. & Wang, W-L. 1980. Survival of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* in Biological Milieus. *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 11, No. 4, pp. 309-313.
- Bock, B.R. & Kissel, D.E. 1988. Ammonia volatilization from urea fertilizers. National fertilizer development center Tennessee Valley Authority Muscle Shoals, Alabama. Bulletin Y-206, pp. 37-52.
- Brock, T.D. & Madigan, M.T. 1991. *Biology of microorganisms*. Prentice-Hall, Inc. Englewoods Cliffs.
- Brooks, F. 1989. *Medical microbiology*. Appleton & Lange, East Norwalk.
- Feachem, E.G., Bradely, D.G., Garelik, H. & Mara, D. 1983. *Sanitation and Disease*. Wiley, Chichester.
- Freney, J.R. & Simpson, J.R. 1983. Gaseous loss of nitrogen from plant-soil systems. Junk Publishers, Boston.
- Gerba, C.P. & Bitton, G. 1984. *Microbial Pollutants: Their survival and transport pattern to groundwater*. Groundwater pollution Microbiology. Wiley, New York.
- Guyton, A, C. 1987. *Human physiology and mechanisms of disease*. Saunders Company, Philadelphia.
- Hart, H. 1987. *Organic chemistry, a short course*. Houghton Mifflin Company, Boston.
- Holt, J.G. 1994. *Bergeys Manual*. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Humphrey, T. J. 1986. Techniques fo optimum recovery of cold injured *Campylobacter jejuni* from milk and water. *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 61, pp. 125-132.
- Jönsson, H., Kirchman, H., Stenström, T.A., Olsson, A. & Pettersson, S. 1995. Källseparerad humanurin-växtnäring och hygien. Lantbrukskonferensen, konferensrapport, SLU Info, rapporter allmänt 187. Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala.
- Kreuger, J. 1986. Kemisk vattenkvalitet vid bevattning. Rapport 149, Institutionen för markvetenskap, Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala.
- Korhonen, L. K. 1991. Survival of *Escherichia coli* and *Campylobacter jejuni* in untreated and filtered lake water. *Journal of Applied Bacteriology*, 71, pp. 379-382.
- Mara, D. & Cairncross, S. 1989. *Guidelines for the safe use of wastewater and excreta in agriculture and aquaculture*. World Health Organisation, Geneva.

- Pettersson, O. 1992. Kretslopp i odling och samhälle. Aktuellt från lantbruksuniversitetet Mark/växter 408. Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala.
- Pettersson, S. 1995. Humanurin som växtnäringskälla. Kemisk sammansättning och gödslingseffekt. Examensarbete 93, Institutionen för markvetenskap. Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala.
- SCB, 1992. Naturmiljön i siffror. Sveriges officiella statistik. Statistiska centralbyrån. Stockholm.
- Sinton, L.W., Davies-Colley, R. J. & Bell, R. G. 1994. Inactivation of Enterococci and Fecal Coliforms from Sewage and Meatworks Effluents in Seawater Chambers. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 60, No. 6, pp. 2040-2048.
- Smith, J.J., Howington, J.P. & Mc Feters, G.A. 1994. Survival, Physiological Response and Recovery of Enteric Bacteria Exposed to a Polar Marine Environment. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 60, No. 8, pp. 2977-2984.
- SNFS.1994. Kungörelse med föreskrifter om skydd för miljön, särskilt marken, när avloppslam används i jordbruket. Statens naturvårdsveks författningssamling. Statens naturvårdsverk, Stockholm.
- SNV, 1995. Vad innehåller avlopp från hushåll. Rapport 4425, Statens naturvårdsverk, Stockholm.
- Stenström, T.A & Sven Hoffner. 1981. Reduktion av tarmbakterier, virus och parasiter i avloppsreningsverk. Rapport SNV PM 1533. Statens naturvårdsverk, Stockholm.
- Stenström, T.A. 1987. Kommunalt avloppsvatten från hygienisk synpunkt. Mikrobiologiska undersökningar. Rapport SNV PM 1956. Statens naturvårdsverk, Stockholm.
- Stenström, T.A. 1995. SNV Vattenbok. Mikrobiologisk hygienisk riskvärdering för traditionella och alternativa avloppslösningar, arbetsexemplar.
- Svensk Standard , 1992. SS 02 81 67. Vattenundersökningar- Coliforma bakterier, termotoleranta coliforma bakterier och presumtiva *Escherichia coli* i vatten- Bestämning med membranfiltermetod (MF). SIS- Standardiseringskommisionen i Sverige.
- Svensk Standard , 1986. SS 02 81 79. Vattenundersökningar- Fekala streptokocker i vatten- Bestämning genom koloniräkning. SIS- Standardiseringskommissionen i Sverige.
- Svensson, P. 1993. Nordiska erfarenheter av källsorterande avloppssystem. Examensarbete 1993 117:E, Avdelningen för restproduktteknik. Tekniska högskolan, Luleå.
- The National Research Council. 1977. Drinking Water and Health. National Academy of Science, Washington, D.C.
- Wolgast, M. 1992. Rena vatten - om tankar i kretsloppet. Creanon HB. , Uppsala.

Wolgast, Å. 1994. Flöden av fosfor och kadmium i stad och land- en studie av två gårdar i mellansverige. Examensarbete 900, Institutionen för växtodlingslära. Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala.

## **PERSONLIGA MEDDELANDEN**

Forsberg, L, 1995. Stensunds folkhögskola

Jönsson, H, 1995. Institutionen för lantbruksteknik, Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala